Über den Einfluss sporentragender Stäbchen auf die Säurebildung in Mischungen von Mehl und Wasser.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Joseph Stockmann

approb. Arzt

aus

Althaldensleben.

ACAD. LAND.RAT. BIBL.

WÜRZBURG.

Buchdruckerei F. Staudenraus (vorm. Fleischmann).

1905.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent:
Herr Prof. Dr. K. B. Lehmann.

Meinen teuren Eltern

in dankbarer Liebe

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507206_0044

Einleitung.

Im Frühjahr 1904 stellte mein Freund Herr Joseph Flögel unter meiner gelegentlichen Mithülfe im hiesigen hygienischen Institute Versuche an über die Säurebildung in Mischungen von Mehl und Wasser. Zu diesem Zwecke wurden 5,0 gr Mehl und 25 ccm Wasser in Erlenmeier'schen Kolben gemischt und bei 37° Cels. im Brutschrank aufbewahrt. Alle 24 Stunden wurde eine Anzahl dieser Kolben zur Bestimmung ihres Säuregehaltes mit $^1/_5$ Normal-Natronlauge titriert. Die Freude an der im übrigen ganz guten Gleichmässigkeit der Resultate wurde häufig getrübt, durch Proben, die sich schon in ihrem Äusseren als minderwertig kennzeichneten. Diese Proben, die sich rund in 20 % aller angesetzten Versuche fanden, zeigten auf ihrer Oberfläche einen gelblich-weissen Belag und hatten einen eigentümlichen unangenehmen Geruch. Beim Titrieren fand sich dann jedesmal eine bedeutend geringere Acidität, als nach den gleich alten, normal gebliebenen Proben erwartet werden musste.

Ich entnehme den Flögel'schen Tabellen einige auffallende Beispiele solcher mit dem oben beschriebenen Belag und Geruch versehener Proben und gebe als Vergleich dazu die normal gefundenen Zahlen.

Versuche mit 5,0 gr Mehl und 25 ccm Wasser.

	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
Normale Proben	8,3	11,6	13,6
Proben mit Belag	4,6	3,5	4,9

Die Zahlen geben die Cubiccentimeter $^1/_5$ Normal-Natronlauge an, die zur Neutralisierung der vorhandenen Säure erforderlich waren. — Multipliciert man die Z. mit 4 Normalsäure, so gibt sie die Werte für 100 gr Mehl an.

Noch auffallender waren die Zahlenunterschiede, die sich ergaben, wenn statt 5,0 gr Mehl, 5,0 gr Kleie genommen wurden und diese Proben dann den obengenannten Belag hatten.

Das folgende Beispiel zeigt dies sehr deutlich:

Der Erlenmeier enthielt 5,0 gr Kleie und 25 ccm Wasser.

	nach 1 Tage	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
Normale Probe	26,0	—	—	—
Proben mit Belag	—	10,6	7,6	9,8

Flögel ist es überhaupt nicht gelungen, die Versuche mit Kleie über mehr als 24 Stunden fortzusetzen, weil ihm der Belag, der sich regelmässig am zweiten Tage auf den Proben fand, stets die Resultate verdarb. Offenbar fand jener Organismus, der den Belag bildet sich in der Kleie so zahlreich, oder er fand hier einen so günstigen Nährboden, dass er sich besonders gut entwickeln konnte.

Selbst schon durch die entmutigenden Erfolge Flögels bei seinen Versuchen aufmerksam und neugierig geworden, um was es sich bei dieser Erscheinung wohl handeln möchte, wurde ich von meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Lehmann dazu ermuntert der Wirkungsweise jenes fraglichen Organismus nachzuforschen.

Folgende Möglichkeiten bestehen für die Wirkungsweise des fragl. Organismus:

I. Er wirkt dadurch ungünstig auf die Säurebildung ein, dass er die von anderen Organismen gebildete Säure wieder zerstört.

II. Er bildet selbst Alkali und verdeckt dadurch die von anderen Organismen gebildete Säure.

III. Er zerstört den im Mehl enthaltenen Zucker und raubt dadurch den Säurebildnern die Nahrung.

IV. Er wirkt als Antagonist der Säurebildner.

Mit diesen vier Punkten ist gleichzeitig auch die Einteilung der vorliegenden Arbeit gegeben.

Bevor ich zur Mitteilung unserer Untersuchungen übergehe, will ich kurz eine Beschreibung des von uns gebrauchten Organismus folgen lassen.

Züchtungsversuche.

Von den Mehlproben Flögels gewannen wir auf die übliche Art Reinkulturen und untersuchten zunächst die Lebensweise unseres Organismus.

Ungefärbtes Präparat: Es zeigt sich ein kurzes, dickes Stäbchen, von denen jeweils 3—4 hintereinander gelagert waren. Die Stäbchen hatten keine sehr lebhafte Eigenbewegung.

Färbbar ist das Stäbchen auch nach Gram.

Ältere Culturen zeigen reichliche Sporenbildung.

Wachstum auf saurem Agar schlecht.

Auf neutralem Agar zeigten sich in Plattenkulturen nach 18 stündigem Bebrüten zahlreiche, kreisrunde Kolonien von etwa 1—2 mm Durchmesser und von grauweisslichem Aussehen. An einigen Stellen waren die Konturen der Kolonien nicht so deutlich, sondern die Kolonie ging in einen zarten, hauchartigen Schleier über. Unter dem Mikroskop erschienen die Kolonien von zahlreichen Furchen und Falten durchzogen. Der Rand der Kolonien zeigte ganz zarte Ausfranselungen. Andere Kolonien hingegen zeigten in ihrem Inneren ein netzartiges Gerüst, von reicher Verästelung. Der Rand dieser Kolonien zeigte zarte, reich verzweigte Ausläufer, die peitschenschnurartig über die Peripherie vorsprangen.

Die Gelatine-Stichkultur zeigte nach 2 Tagen auf der Oberfläche einen dünnen, fettig aussehenden, glänzenden Belag von der Gestalt eines vierblätterigen Kleeblattes. Der Stichkanal zeigte in seinem oberen Drittel reichliche Ästchen, die rechtwinklig vom Stichkanal abgehen und wieder kleinere Seitenästchen tragen. Die unteren zwei Drittel zeigen keine seitlichen Ver-

zweigungen. Gelatineverflüssigung habe ich nicht beobachtet.

Die Agarstichkulturen zeigten bei 37° nach 24 Stunden gutes Wachstum. Auf der Oberfläche hatte sich ein fettigglänzender, gelblich-weisser Belag von ungefähr Schmetterlingsform gebildet. Der Stichkanal zeigte in seinem oberen Drittel seitliche Verzweigungen, die nicht so zahlreich aber stärker waren, als bei den Gelatinestichkulturen.

Die Kartoffelkulturen entwickelten sich nach 2 Tagen. Es hatte sich ein fettig-glänzender, gelblich-weisser Belag gebildet. An verschiedenen Stellen erhob sich derselbe zu in Reihen gestellten, halbkugeligen Erhebungen. Die Kartoffel war am Rande der Kultur blau-schwarz verfärbt.

Dem Wachstum nach zu urteilen handelt es sich um einen Mycoides.

Wir bezeichnen den Organismus in den folgenden Versuchen als „Stäbchen vom weissen Mehlbelag".

Der Organismus steht Bacillus subtilis und mycoides nahe, eine genauere Untersuchung und Bestimmung habe ich nicht vorgenommen.

A.

Hindert das sporentragende Stäbchen das Auftreten grösserer Säuremengen in Mischungen von Mehl und Wasser dadurch, dass es die von anderen Organismen gebildete Säure wieder zerstört?

Um diese Frage zu entscheiden wurden Nährböden gewählt, die in ihrer Reaction den in den Flügel'schen Versuchen gefundenen Säuremengen entsprachen. Es wurden anfangs die gewöhnlichen Nährböden gewählt und diese nachdem sie durch Zusatz von Natronlauge neutralisiert waren durch Zusatz von Weinsäure stark sauer gemacht. Die Acidität der Nährböden schwankte in den einzelnen Versuchen zwischen 4,0—5,8 ccm $^1/_5$ Normalsäure. In den späteren Versuchen wurde statt der Weinsäure Milchsäure dem Nährsubstrat zugesetzt, um zu erproben ob dabei nicht ein besseres Wachstum der verwendeten Organismen zu erzielen sei.

Mit einem Worte sei hier der Methode gedacht, mittels deren wir uns bei unseren späteren Versuchen steriles Mehl herstellten, um unserem sporentragenden Stäbchen auch in Bezug auf die Qualität des Nährbodens möglichst dieselben Bedingungen zu schaffen, die es in den Versuchen von Flügel fand. Es standen uns dabei mehrere Methoden zu Gebote, die aber teils schon als unsicher erkannt waren, teils das Mehl so sehr veränderten, dass es sich nicht mehr mit genügender Gleichmässigkeit zu Nährböden verarbeiten liess. Es war dies einmal, die schon früher im hiesigen Institut geübte Methode des Überschichtens des Mehles mit Äther, die

Wolff und nach ihm Levy und Holliger anscheinend mit gutem Erfolg angewandt hatten. Herr Prof. Dr. Lehmann hat aber später selbst mit dieser Methode keine günstigen Resultate erzielt, weshalb wir von vornherein darauf verzichteten, uns auf diese Weise steriles Mehl herzustellen. Desgleichen sagte uns die von Dombrowsky angegebene Methode der Sterilisierung im Autoklaven unter erhöhten Druck nicht zu, weil das Mehl dabei so fest zusammenklebte, dass es nur selten gelang es nachher gleichmässig im Wasser zu verteilen.

Wir versuchten daher unser Mehl im Dampftopf bei 100° zu sterilisieren. Das Mehl wurde zu je 5,0 gr im Erlenmeier'schen Kolben an zwei aufeinander folgenden Tagen je drei Stunden der Hitze im Dampftopfe ausgesetzt. Das Mehl veränderte bei dieser Prozedur seine Farbe gar nicht, es erschien allerdings zusammengebacken, liess sich aber durch mässiges Klopfen der Kolben auf der flachen Hand leicht wieder zu seiner ursprünglichen Consistenz zurückführen. Etwa vorhandene, grössere Brocken lösten sich in den eingebrachten 25 ccm sterilen, destillierten Wassers sehr leicht.

Um die Sterilität des so behandelten Mehles zu erproben, wurden bei jeder Versuchsreihe aus 1-2 Kölbchen je eine Oese Mehl in Röhrchen mit sterilem Agar gebracht und davon auf die gewöhnliche Art Platten gegossen. Die Platten wurden im Brutschrank bei 37° Cels. aufbewahrt. Wir haben niemals beobachtet, dass sich auf diesen Platten Kolonien irgend welcher Mikroorganismen bildeten und konnten daher das Mehl jedesmal für steril halten.

Da Flögel bei seinen Versuchen häufig auch verschimmelte Proben mit auffallend niedrigen Säurewerten fand, so habe auch ich bei meinen Untersuch-

ungen verschiedene Arten von Schimmelpilzen verwendet, jedoch richtete sich unser Hauptinteresse auf das von uns gezüchtete sporentragende Stäbchen, dass in den folgenden Versuchen stets mit, „weisser Mehlbelag“ bezeichnet wird. Wir betonen ausdrücklich, dass von dem weissen Mehlbelag nur von uns selbst gezüchtete Reinkulturen zur Verwendung kamen.

Die Anordnung der einzelnen Versuchsreihen ist aus den Protokollen ersichtlich.

Ich lasse nun die Protokolle der verschiedenen Versuche folgen:

I. Versuch.

1000 ccm Agarnährboden wurden schwach alkalisch gemacht und darauf zu je 100 cm des Nährbodens 0,3 gr Weinsäure hinzugesetzt. Der saure Nährboden wurde zu je 10 ccm in Reagensgläser gefüllt und beimpft mit Reinkulturen von

Penicillium olivaceum
Penicillium italicum
Mucor rhizopodiforme
Mucor corymbifer
Bacterium megatherium
Bacillus subtilis
Weissem Belag von Mehlproben
Rotem Belag von Mehlproben.

---

[1]) Unentschieden bleibt, ob ich aus dem weissen Mehlbelag immer das gleiche Stäbchen erhalten hätte bei Anlegung von Reinkulturen, oder ob mehrere nahe verwandte Arten neben einander vorhanden waren. Da ich mit meiner ersten Reinkultur aus dem Belag die gleichen Wirkungen wie mit dem Belag selbst erzielte, bin ich der Frage nicht weiter nachgegangen.

Die Kulturen wurden im Brutschrank aufbewahrt. Nach 5 Tagen zeigte sich makroskopisch noch keine Veränderung der Kulturen.

Darauf wurden von jeder Kultur die Hälfte im Brutschrank, die andere Hälfte ausserhalb derselben bei durchnittlich 18—21° Cels. aufbewahrt.

Von den auch weiterhin im Brutschrank verbleibenden wuchs nur Aspergillus niger.

Die Titrierung der ausserhalb des Brutschrankes aufbewarten, sich gut entwickelnden Kulturen ergab nach 50 Tagen folgende Resultate.

Kulturen	Säuregehalt nach 50 Tagen	
Nicht geimpfte Nährböden	+2,1	+2,2
Nicht geimpfte Nährböden	+2,2	+2,2
Nicht geimpfte Nährböden	+2,3	
Penicillium italicum	—0,3	
Penicillium olivaceum	—0,8	
Aspergillus favescens	—0,2	—0,5
Aspergillus niger	+0,7	+0,7
Mucor rhizopodiforme	—0,2	
Weisser Belag von Mehlproben	+0,2	+1,0

II. Versuch.

Zu 1000 ccm Bouillon wurden 3,0 gr Weinsäure gesetzt und die Bouillon zu je 25 ccm in Erlenmeier gefüllt. Durch Zusatz von etwas Lakmustinktur wurde die Bouillon schwach rot gefärbt. Der Weinsäurezusatz entsprach in jedem Erlenmeier einem Werte von 5,0 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge.

Von diesen Nährböden wurden je vier geimpft mit Reinkulturen von

Penicillium olivaceum
Penicillium italicum
Mucor rhizopodiforme
Mucor corymbifer
Aspergillus favescens
Aspergillus niger
B. megatherium
B. subtilis
Weissem Belag von Mehlproben
Rotem Belag von Mehlproben.

Die Kulturen wurden im Brutschrank bei 37° Cels. aufbewahrt. Nach verschieden langer Zeit zeigten Wachstum: Asperg. niger. Penicill. olivac. und Mucor rhizopod.

Die einzelnen Proben wurden titriert, wenn jedesmal die betreffende Kultur den ganzen Nährboden überzogen hatte. Dabei ergab sich:

Kultur	Säuregehalt				Tag d. Titr.	Bemerkungen
Penicillium olivaceum	— 0,5	— 0,7	+ 2,5		31 Tagen	Probe 3 war noch von schwarzer Farbe
Penicillium italicum	4,5	4,5	4,0	2,5	21 Tagen	Probe 4 wurde nach 31 Tagen titriert
Mucor rhizopodiforme	— 2,5	— 2,2	— 1,7	— 1,2	32 Tagen	
Bacterium magatherium	4,8	4,2	4,0	3,8	21 Tagen	
Aspergillus niger.	2,0	2,0	1,5	1,5	5 Tagen	Probe 3 und 4 wurden nach 8 Tagen titriert

Die gleichzeitig mit aufgestellten, nicht beimpften Kontrollproben zeigten eine Acidität von 5,0 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge.

III. Versuch.

Zu 1000 ccm Bouillon wurden 3,0 gr Weinsäure gegeben und die saure Bouillon zu je 25 ccm auf Erlenmeier gefüllt. Zu je 25 ccm Bouillon wurden 5,0 gr steriles Schwungmehl gegeben. Die Acidität der Nährböden betrug 5,8 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge. Die Nährböden wurden geimpft mit Reinkulturen von

Penicillium olivaceum
Penicillium italicum
Mucor rhizopodiforme
Mucor corymbifer
Aspergillus favescens
Aspergillus niger
Bacterium megatherium

Bacillus subtilis
Weissem Belag von Mehlproben
Rotem Belag von Mehlproben.

Die Kulturen wurden im Brutschrank aufbewahrt.

Wachstum zeigten allein und zwar nach 5 Tagen:

Aspergillus niger
Weisser Belag von Mehlproben.

Die Titrierungen der beiden allein gewachsenen Kulturen nach 5 bezw. 8 Tagen ergaben:

Kulturen	Säuregehalt				Bemerkungen
	nach 5 Tagen		nach 8 Tagen		
Aspergill. niger auf Bouillon mit 5,0 gr steril. Mehl	10,5	10,0	9,0	6,0	
Weisser Belag von Mehlproben auf Bouillon mit 5,0 gr steril. Mehl	— 6,0				

Die gleichzeitig mit aufgestellten Kontrollproben, die nicht geimpft waren und steril blieben, zeigten nach 5 bezw. 8 Tagen eine Acidität von 5,8 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge.

IV. Versuch.

Es wurden je 5 gr Schwungmehl (feinstes Weizenmehl) in Erlenmeier gefüllt und durch mehrstündiges Erhitzen im Dampftopf sterilisiert. Ferner wurden zu 1000 ccm destillierten Wassers 3,0 ccm Milchsäure gegeben und die Flüssigkeit zu je 25 ccm in Kölbchen gefüllt. Dieselben wurden gleichfalls durch mehrstündiges Kochen im Dampftopf sterilisiert. Jedes der mit Flüssigkeit beschickten Kölbchen enthielt eine Säuremenge, die etwa 3,5 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge entsprach. Der sterile Inhalt dieser Kölbchen wurde mit grösster Vorsicht und Sorgfalt in die mit 5,0 gr Mehl beschickten, sterilisierten Kölbchen gegossen. Der so gewonnene Nährboden, bestehend aus 5,0 gr Mehl und 25 ccm destill. Wasser zeigte, da die 5,0 gr Mehl etwa 0,8 ccm Säure enthielten, einen Säurewert, der etwa 4,0—4,2 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge entsprach. Diese Nährböden wurden geimpft mit Reinkulturen von

Penicillium olivaceum
Penicillium italicum
Mucor rhizopodiforme
Aspergillus niger
Bac. subtilis
Bact. megatherium
Weissem Belag von Mehlproben.

Ergebnis der Titrierungen von Versuch IV.

Nummer	Tag der Titrierung	Nicht geimpfte Kontrollproben	Penicillium olivaceum bei Zimmertemperatur	Penicillium olivaceum bei 37° Cels.	Aspergillus niger. bei Zimmertemperatur	Aspergillus niger. bei 37° Cels.	Weisser Mehlbelag bei Zimmertemperatur	Weisser Mehlbelag bei 37° Cels.	Penicillium italicum bei Zimmertemperatur	Penicillium italicum bei 37° Cels.	Mucor rhizopodiforme bei Zimmerdemperatur	Bacterium megatherium bei Zimmertemperatur	Bacillus subtilis bei Zimmertemperatur	Bemerkungen
1.	7.	4,4.	3,5.		13,5.									Proben blieben sämmtlich steril
2.	10.	4,3.	2,8.											4—6 zeigten weniger starkes Wachstum
3.	11.	4,3.	0,7.											
4.	14.	4,3.	3,0.											Zeigten sämtlich nur geringes Wachstum
5.	14.		3,5.											
6.	14.		4,1.	3,9.										
7.	15.	4,4.	1,5.	3,8.	13,0.				4,2.	4,3.	4,3.			
8.	15.		1,1.	3,6.					3,2.	4,0.	3,5.			
9.	16.	4,3.			10,4.	5,7.		5,9.				5,8.	5,7.	
10.	16.							5,9.				4,2.	5,6.	
11.	16.							5,9.						
12.	16.							5,7.						
13.	22.	4,3.					3,2.				4,3.			Zeigten makroskop. keine Veränderung
14.	22.						3,1.				4,2.			Zeigten nur geringes Wachstum
15.	22.						3,0.				4,1.			Geringes Wachstum
16.	22.						2,8.				3,7.			Mikroskopisch keine Veränderung
														Geringes Wachstum
														Flüssigkeit zeigte gelbliche Verfärbung
														Flüssigkeit zeigte gelbliche Verfärbung

Die Kulturen wurden aufbewahrt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Nach 5 Tagen zeigten die mit Penicill. olivaceum geimpften Kulturen mehrere deutliche Pilzrasen, ebenso die mit Aspergill. niger geimpften. Die übrigen Kulturen und die nicht geimpften Kontrollproben zeigten nach 5 Tagen keine makroskopische Veränderung.

V. Versuch.

Es wurden je 2,0 gr Weizenkleie in Erlenmeier gefüllt uud durch mehrstündiges Kochen im Dampftopf sterilisiert. Degleichen wurden 1000 ccm destillierten Wassers durch Zusetzen von 3,0 ccm Milchsäure sauer gemacht, je 25 ccm der Flüssigkeit in Erlenmeier gefüllt und durch mehrstündiges Kochen im Dampftopf sterilisiert. Die sterile Flüssigkeit wurde dann mit grösster Vorsicht und Sorgfalt zu der sterilisierten Weizenkleie gegeben, sodass jeder der dadurch entstehenden Nährböden, bestehend aus 2,0 gr Weizenkleie und 25 ccm Wasser, eine Acidität hatte, die einem Werte von 4,4 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge entsprach.

Diese Nährböden wurden geimpft mit Reinkulturen von

Penicillium olivaceum

Aspergillus niger.

Diese wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Ferner wurde geimpft mit

Weissem Belag von Mehlproben.

Von letzteren Kulturen wurde die eine Hälfte im Brutschrank bei 22° Cels., die andere bei 37° Cels. aufbewahrt.

Am 4. Tage zeigten die Kulturen mit Aspergillus niger und Penicillium olivaceum einen leichten, weissen Überzug von kleinen runden Pilzrasen.

Die Kulturen mit „weissem Mehl-Belag“ zeigten keinerlei Veränderung.

Kulturen	Säuregehalt		Bemerkungen
	nach 9 Tagen	nach 16 Tagen	
Nicht geimpfte Nährböden	4,4	4,4	Blieben steril
Penicillium olivaceum	2,7	— 1,1	
Aspergillus niger	6,5	5,3	
Weisser Mehlbelag bei 37° Cels.	4,1	4,9	Zeigten makroskopisch keine Veränderung
Weisser Mehlbelag bei 22° Cels.	4,1	3,9	Zeigten makroskopisch keine Veränderung

VI. Versuch.

Es wurde Weizenkleie zusammen mit destilliertem Wasser im dem Verhältnis, dass auf je 1,25 gr Weizenkleie 25 ccm Wasser kamen, 2 Stunden lang im Dampftopfe gekocht. Die Flüssigkeit wurde darauf durch ein Tuch gepresst und von dem Kleienrückstand befreit. Zu je 100 ccm der Flüssigkeit wurden 0,3 ccm Milchsäure gesetzt und die Flüssigkeit dann zu je 25 ccm in Erlenmeier gefüllt. Der Inhalt eines jeden der Kölbchen hatte eine Acidität, die einem Werte von 4,3 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge entsprach. Die Kolben wurden durch mehrstündiges Kochen im Dampftopf sterilisiert und dann geimpft mit Reinkulturen von

Penicillium olivaceum
Aspergillus niger.

Die Hälfte dieser Kulturen wurde an einem hellen Platze bei Zimmertemperatur, die andere Hälfte an einem dunkelen Platze bei derselben Temperatur aufbewahrt.

Ferner wurde geimpft mit

Weissem Belag von Mehlproben.

Diese Kulturen wurden im Brutschrank bei 37° Cels. aufbewahrt.

Nach 2 Tagen zeigten die mit Penicillium olivaceum und Aspergillus niger geimpften Nährböden deutlich mehrere schleimige Flocken und kleine Räschen von Fruchtträgern, die am 8. Tage die ganze Oberfläche der Kulturen in dichter Lage überzogen.

Die mit weissem Mehlbelag geimpften Kulturen zeigten am 12. Tage makroskop. noch keine Veränderung.

Die Titrierungen ergaben:

Kulturen	Säuregehalt		Bemerkungen
	nach 8 Tagen	nach 12 Tagen	
Nicht geimpfte Nährböden	4,3	4,3	Blieben steril
Penicillium olivaceum im Hellen	2,1	1,0	
Penicillium olivaceum im Dunkeln	1,8	0,9	
Aspergillus niger im Hellen	6,1	4,7	
Aspergillus niger im Dunkeln	7,6	7,9	
Weisser Mehlbelag im Hellen	4,6	4,4	Zeigten makroskopisch keine Veränderung

Zusammenfassung der Versuche I—VI.

Fassen wir das Resultat der einzelnen Versuche kurz zusammen, so ergibt sich, dass sich zwar in manchen Fällen eine geringe Abnahme der ursprünglichen Acidität der Nährböden nachweisen liess, sowohl bei dem uns hauptsächlich interessierenden sporentragenden Stäbchen von „weissem Mehlbelag" als bei den Versuchen mit verschiedenen Schimmelpilzen. Jedoch die Abnahme der Acidität ist so gering bei dem Stäbchen vom weissen Mehlbelag und sie tritt erst nach so langer Zeit in Erscheinung, dass es sehr unwahrscheinlich ist, dass die Säureabnahme in den Gährungsversuchen mit nichtsterilem Mehl und Wasser durch Zerstörung zuerst gebildeter Säure bedingt sein kann, denn das Wachstum des Stäbchens auf den benützten stark sauren Nährböden war ein überaus kümmerliches, so unscheinbar, dass in den meisten Fällen makroskopisch überhaupt keine Veränderung an den Nährböden zu konstatieren war.

Das Resultat des Versuches III, bei dem nach 5 Tagen eine Alkalescenz entsprechend 6,0 ccm $^1/_5$ Normal-Alkali gefunden wurde, mithin eine Säureabnahme und darüber hinaus Alkalibildung nachzuweisen war, bin ich versucht als nicht zuverlässig zu erklären, sei es dass die ursprüngliche Acidität des Nährbodens nicht richtig bestimmt wurde, sei es dass später beim Titrieren ein Fehler gemacht worden ist. Jedenfalls steht das Resultat in der ganzen Versuchsreihe einzig da und kann zu weiteren Schlüssen keine Veranlassung geben.

Es kontrastieren die Resultate dieses Abschnittes allerdings auffällig mit den Beobachtungen Flögels, der doch bei seinen Versuchen, selbst wenn der ganze Kolbeninhalt mit dem weissen Belag überzogen war,

immerhin noch Säuremengen im Werte von 4,0—5,0 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge in den 30 ccm Nährböden fand.

Vielleicht lässt sich diese Erscheinung so erklären, dass unser Stäbchen in dem nicht sterilen Mehl der Flögel'schen Versuche einen anderen Organismus vorfand, der durch seine Lebensäusserungen die im Mehl vorhandenen Nährstoffe unserem Stäbchen erst mundgerecht machte, so dass es dieselben besser in seinem Sinne verwerten konnte.

Wenn die Annahme einer solchen Art von Symbiose das Richtige trifft, so könnte das Wachstum unseres Stäbchens in Reinkulturen auf stark sauren Nährböden ein sehr beschränktes, wenn nicht ganz unmögliches sein.

Alles in Allem darf man also sagen: Unser Stäbchen kann, da es auf stärker sauren Nährböden nur ein ganz beschränktes Wachstum und meist keine Säurezerstörung zeigt, nicht dadurch das Auftreten grösserer Säuremengen in Mehl-Wasser-Mischungen hindern, dass es die gebildete Säure zerstört.

B.

Bildet das vorliegende sporentragende Stäbchen selbst Alkali und verdeckt dadurch die von anderen Organismen gebildete Säure?

Mit dieser Frage sollen sich die folgenden Versuche beschäftigen. Schon bei der vorigen Versuchsreihe war uns eine Kultur aufgefallen, die beim Titrieren eine ziemlich bedeutende Alkalescenz aufwies. Wenn wir sie auch bei der Beantwortung der ersten Frage als unzuverlässig ausser Rechnung liessen, so gab sie uns doch einen Fingerzeig für unsere weiteren Untersuchungen,

denn sie erregte in uns den Verdacht, dass unser Stäbchen ein Alkalibildner sein könne.

Als Nährböden wurden bei den folgenden Versuchen Bouillon und der von uns in den früheren Versuchen schon benutzte Nährboden bestehend in 5.0 gr Schwungmehl (feinstes Weizenmehl) und 25,0 ccm Wasser benutzt.

Die Nährböden wurden in den ersten Versuchen schwach sauer, später neutral und zuletzt schwach alkalisch gewählt, da bei einer geringen Alkalescenz unser Stäbchen das beste Wachstum zeigte.

Bezüglich der Versuchsanordnung ist das Nähere bei den einzelnen Protokollen angegeben.

Zur Bestimmung des Ammoniaks in den Kulturen wurde sowohl die bei Versuch X beschriebene Methode von Schlösing als auch die von Kjeldahl angewandt.

Es sollen jezt die Protokolle der von uns ausgeführten Versuche folgen:

VII. Versuch.

In Reagensgläser wurde je die gleiche Menge einer schwach sauren Bouillon gefüllt, sodass der Inhalt eines jeden Glases einem Säueregehalt von 0,5 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge entsprach. Die Nährböden wurden sterilisiert und geimpft mit:

Weissem Belag von Mehlproben.

Die eine Hälfte der Kulturen wurde im Brutschrank bei 22° Cels., die andere Hälfte bei 37° Cels. aufbewahrt.

Die bei 37° Cels. aufbewahrten Kulturen zeigen nach 24 Stunden am Rande die Ansetzung eines dünnen Häutchens. Die bei 22° Cels. zeigen noch keine Veränderung.

Nach 48 Stunden überzog das Häutchen die ganze Oberfläche der bei 37° Cels. aufbewahrten Kulturen.

In den nächsten Tagen sinken die Häutchen allmählich auf den Boden des Reagensglases, während sich an der Oberfläche neues Wachstum einstellt.

Am 5. Tage beginnt auch bei den bei 22° Cels. aufbewahrten Kulturen das Wachstum und schreitet in den nächsten Tagen fort, jedoch nicht so üppig wie in den bei 37° Cels. aufbewahrten Kulturen.

Vom 6. Tage an wird titriert.

Die Titrierungen ergeben:

Kulturen	Säuregehalt nach:				Bemerkungen
	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	
Nicht geimpfte Nährböden	+ 0,5	+ 0,5	+ 0,5	+ 0,5	Blieben steril
Weisser Mehlbelag bei 37° Cels.	— 0,7	— 1,3	— 1,2	— 1,1	3. u. 4. waren nicht so stark entwickelt als 1. u. 2.
Weisser Mehlbelag bei 22° Cels.	— 0,4	— 0,9	— 0,4	— 0,2	dito.

IX. Versuch.[1])

Eine schwach alkalische Bouillon wurde zu je 10 ccm in Reagensgläser gefüllt und sterillisiert. Der Inhalt eines jeden Glases hatte eine Alkalescenz von 0,2 ccm. Die Nährböden wurden geimpft mit Weissem Belag von Mehlproben.

[1]) Versuch VIII ergab ungenaue Resultate.

Die Kulturen wurden im Brutschrank bei 37° Cels. aufbewahrt.

Nach 24 Stunden begann an der Oberfläche das Wachstum.

Die Kolonien entwickelten sich gerade so wie die in Versuch VIII beschriebenen.

Vom 4. Tage an wurden täglich zwei Kulturen titriert.

Die ungleichen Ergebnisse der Titrierungen sind höchst wahrscheinlich auf das ungleichmässige Wachstum der Kolonien zurückzuführen.

Die Titrierungen ergaben:

Tag	Säure		Bemerkungen
IV.	– 0,7	– 0,6	
V.	– 1,6	– 1,3	
VI.	– 1,1	– 0,9	Entwicklung der Kulturen nicht sehr stark
VII.	– 2,1	– 0,9	
VIII.	– 1,3	– 1,1	Wenig Belag
IX.	– 1,2	– 1,0	Wenig Belag
	1.	2.	

Die nicht geimpften Kontrollproben blieben steril und zeigten eine Alkalescenz von 0,2 ccm.

XI. Versuch.[1])

Eine schwach alkalische Bouillon wurde zu je 25 ccm in Erlenmeier gefüllt und im Dampftopf sterilisiert. Die Alkalescenz jedes Kolbens betrug 1,0 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge. Die Nährböden wurden geimpft mit:

Weissem Mehlbelag.

Die Kulturen werden im Brutschrank bei 37° Cels. aufbewahrt.

Nach 24 Stunden zeigen sämtliche Kulturen an ihrer Oberfläche ein zartes, leicht zerreissendes Häutchen. Die Kolben haben starken Geruch nach Buttersäuregährung.

In den nächsten Tagen vermehrt sich der Belag, reisst ein und sinkt zu Boden. Der Geruch nach Buttersäuregährung ist am 4. Tag noch vorhanden.

Vom 5. Tag an nehmen die Kulturen leicht fauligen Geruch an, der in den folgenden Tagen allmählich an Intensität zunimmt.

Vom 1. Tag an wird täglich eine Kultur geöffnet und zur Bestimmung ihrer Gesamtalkalescenz titriert, und zwar werden als Indikatoren Phenolphtaleïn und Lackmus genommen. Nachdem die Kulturen titriert sind, wird das etwa in ihnen vorhandene Ammoniak bestimmt. Hierzu wurde teils die in Versuch XI angegebene Schlösing'sche Methode angewandt, teils wurde nach Zusatz vom Magnesiumoxyd Mg O in eine ein

[1]) Die Versuche XI, XII, XIII bringen meine NH_3 Bestimmungen, Versuch X, der einen Vorversuch in dieser Reihe darstellte, ist bei der Publikation der Versuche wegen der Unvollkommenheit seiner Resultate weggeblieben.

bestimmtes Quantum Normalschwefelsäure das NH_3 überdestiliert und titriert.

Beim Titrieren wurde zur Erzielung der Rotfärbung des Lackmus bedeutend mehr Normal-Säure gebraucht, als nötig war, um die rote Farbe des Phenolphtaleïn zum Verschwinden zu bringen Die zu letzterem Zweck gebrauchte Säuremenge nahm von Tag zu Tag gleichmässig ab. Beide Beobachtungen hängen damit zusammen, dass CO_2 auf Phenolphtaleïn wirkt, auf Lackmus nicht.

Die bei der Ammoniakbestimmung gefundenen Werte sind ähnlich schwankend wie die Zunahme der Lackmusalkalinität, gehen auch nicht immer mit derselben parallel, doch ist im ganzen ein Parallelismus unverkennbar und der Durchschnitt der Alkalescenzzunahme und der Ammoniakbildung stimmt auch gut überein.

XI. Versuch.
Weisser Mehlbelag auf alkal. Bouillon.

	Gesamtalkalescenz				Ammoniakgehalt	
Tag	Ursprüngliche Alkalescenz	Alkaligehalt auf Phenolph.	Alkaligehalt auf Lackmus.	Mithin Zunahme der Alkalescenz	Ammoniak ausgedrückt in n/5 Na OH	Methode
1.	1,0.	1,1.	1,5.	0,5.	1,3.	Kjelldal
2.	1,0.	1,0.	3,1.	2,1.	2,4.	Schlösing
3.	1,0.	0,8.	3,3.	2,3.	2,3.	„
4.	1,0.	0,9.	3,5.	2,5.	2,8.	„
5.	1,0.	0,7.	2,9.	1,9.	0,6.	„
6.	1,0.	0,7.	2,4.	1,4.	0,7.	Kjelldal
7.	1,0.	0,6.	2,5.	1,5.	1,9.	„
8.	1,0.	0,5.	2,2.	1,2.	1,2.	„
9.	1,0.	0,4.	1,2.	0,2.	1,5.	„
10.	1,0.	0,4.	1,7.	0,7.	1,2.	„
Mittel				1,43.	1,59.	

XII. Versuch.[1])

Eine schwach akalische Bouillon wird zu je 25 ccm in Erlenmeier gefüllt und im Dampftopf sterilisiert. Die Alkalescenz jedes Kolbeninhaltes beträgt 1,0 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge. Die Nährböden werden geimpft mit:

Penicillium olivaceum.

Die Kulturen werden anfangs bei Zimmertemperatur aufbewahrt und zeigen während der ersten drei Tage keinerlei makroskopische Veränderung.

Am 4. Tag werden die Kulturen wegen der grossen Schwankungen zwischen der Tages- und Nachttemperatur in den Brutschrank bei 22° Cels. gestellt.

Vom 4. Tag an erscheinen in den Kulturen kleine Pilzrasen, die in den nächsten Tagen an Ausdehnung gewinnen.

Vom 7. Tag an wird täglich eine Kultur titriert und auf ihren Ammoniakgehalt untersucht. Dabei wird verfahren wie bei Versuch XII.

---

[1]) Versuch XII und XIII stellen eine kleine Abweichung vom Thema dar.

XII. Versuch.

Penicillium olivaceum auf alkal. Bouillon.

Tag	Gesamtalkalescenz					
	Ursprüngliche Alkalescenz	Alkaligehalt auf Phenolph.	Alkaligehalt auf Lackmus	Mithin Zunahme der Alkalescenz	Ammoniak	Kohlensäure CO_2
7.	1,0.	0,4.	2,3.	1,3.	1,0.	1,9.
8.	1,0.	0,3.	1,4.	0,4.	0,7.	1,1.
9.	1,0.	0,4.	1,5.	0,5.	1,0.	1,1.
10.	1,0.	0,3.	1,8.	0,8.	1,1.	1,5.
11.	1,0.	0,4.	2,8.	1,8.	1,3.	2,4.
12.	1,0.	0,6.	2,8.	1,8.	2,2.	2,2.
13.	1,0.	0,6.	3,4.	2,4.	2,5.	2,8.
14.	1,0.	0,9.	4,1.	3,1.	2,8.	3,2.
15.	1,0.	0,8.	3,0.	2,0.	3,0.	2,2.
16.	1,0.	0,9.	3,1.	2,1.	2,9.	2,2.
Mittel.				1,62	1,85	2,06

XIII. Versuch.

Alkalische Bouillon wurde zu je 25 ccm in Erlenmeier gefüllt und sterilisiert. Die Alkalescenz eines jeden Kolben betrug 1,0 ccm Normal-Natronlauge. Geimpft wurde mit

Aspergillus niger.

Die Kulturen wurden bei Zimmertemperatur (1,7° Cls.) aufbewahrt.

In den ersten drei Tagen zeigten die Kulturen keine makroskopische Veränderung.

Am 3. Tage wurden die Kulturen wegen plötzlich eingetretener Kälte in den Brutschrank bei 22° Cels. gebracht.

Am 6. Tag zeigten sich auf der Oberfläche der Kulturen vereinzelte, winzige Pilzrasen, die sich in den nächsten Tagen allmählich vergrösserten.

Vom 10. Tage an wurde täglich eine Kulture auf Alkali und Ammoniak untersucht. Dabei wurde ebenso wie im Versuch XII verfahren.

Vom 18. Tage an zeigten die Kulturen fauligen Geruch.

XIII. Versuch.

Aspergillus niger auf alkal. Bouillon.

	Gesamtalkalescenz					
Tag	Ursprüngliche Alkalescenz	Alkaligehalt auf Phenolph.	Alkaligehalt auf Lackmus	Mithin Zunahme der Alkalescenz	Ammoniak	Kohlensäure CO_2
10.	1,0.	+ 0,5.	— 1,2.	0,2.	—	1,7.
11.	1,0.	+ 0,5.	— 1,2.	0,2.	—	1,7.
12.	1,0.	+ 0,4.	— 2,1.	1,1.	0,4.	2,5.
13.	1,0.	+ 0,7.	— 1,5.	0,5.	0,3.	2,2.
14.	1,0.	+ 0,5.	— 1,7.	0,7.	0,7.	2,2.
15.	1,0.	+ 0,9.	— 0,8.	— 0,2.	0,6.	1,7.
16.	1,0.	+ 1,8.	— 0,2.	— 0,8.	0,9.	2,0.
17.	1,0.	+ 2,2.	neutral	— 1,0.	1,3.	2,2.
18.	1,0.	+ 1,7.	neutral	— 1,0.	0,9.	1,7.
19.	1,0.	+ 3,2.	+ 1,6.	— 2,6.	1,3.	1,6.

+ Säure; — Alkali.

Zusammenfassung der Versuche VII—XIII.

Wie wir vermutet hatten zeigte sich also bei unseren Versuchen in der Tat, dass unser Stäbchen durch Zerlegung seines Nährsubstrates Ammoniak bildet.

Die Resultate der einzelnen Versuche zeigen allerdings nicht immer Übereinstimmung, doch liegt das wohl zum guten Teil daran, dass beim Impfen nicht jedesmal die gleiche Menge von Material auf den Nährboden gebracht wird.

Über die Verwertung der gefundenen Zahlen für das gebildete Ammoniak besonders in Bezug auf die Zunahme der Alkalescenz der einzelnen Kulturen ist das Nötige bei Besprechung des Veruches XI gesagt.

Es unterliegt also keinem Zweifel nach unseren Erfahrungen, dass unser Stäbchen durch Alkalibildung wohl im Stande ist einen Teil der von anderen Organismen gebildeten Säuren wie in den Flügel'schen Versuchen zu verdecken. Doch sind die Zahlen zu gering, als dass man daraus allein die am Anfang dieser Arbeit vorgeführten Zahlenunterschiede in Flügels Versuchen erklären könnte. Denn die höchste von uns gefundene Ammoniakmenge entsprach einem Werte von 2,8 ccm $^1/_5$ Normal-Säure, während Flügel in seinen Versuchen zwischen normalen und mit Belag versehenen Mehl-Wasserprobe Unterschiede von 4,0 — 7,0 — 8,0 ccm $^1/_5$ Normal-Säure konstatieren konnte.

Da es uns sonst, trotzdem wir die Frage nach der Alkalibildung durch unser Stäbchen bejahen konnten, dennoch unglaubhaft erschien, dass dies der einzige Modus der Einwirkung auf die Säurebildung in Mehl-Wassermischungen durch das Stäbchen sei, legten wir uns nunmehr die Frage vor:

C.

Frisst unser Stäbchen den von den Fermenten gebildeten Zucker und raubt dadurch den Säurebildnern die Nahrung?

Zur Beantwortung dieser Frage bestimmten wir den Zuckergehalt des von uns gebrauchten Mehles auf folgende Weise:

5,0 gr Schwungmehl wurden in Erlenmeier'sche Kolben gegeben und mit 25 ccm 50% Alkohols übergossen. Das Ganze wurde kräftig geschüttelt und unter öfterem Schütteln 12 Stunden stehen gelassen. Darauf wurde die Masse filtriert und auf dem Wasserbade der Alkohol verjagt. Der Rückstand wurde durch Zusetzen von destilliertem Wasser auf 10 ccm gebracht. Diese 10 ccm, die also den ganzen aus dem Mehl extrahierten Zucker enthielten, wurden mit Ammoniumsulfat gesättigt, um etwa mit extrahiertes Eiweiss zu fällen. Dann wurde wieder filtriert und man erhielt 10 ccm einer klaren Flüssigkeit, von der jedesmal 2,5 ccm zur Bestimmung des Zuckergehaltes verwendet wurden.

Die Zuckerbestimmung wurde nach der von Herrn Prof. Dr. Lehmann angegebenen Methode ausgeführt.

Wir verfuhren folgendermassen:

1. 25 ccm Fehling'sche Lösung I, 25 ccm Fehling'sche Lösung II und 97 ccm destilliertes Wasser werden in einer 300 ccm fassenden Porzellanschale zum Sieden erhitzt. Dabei wird sorglich darauf geachtet, dass nichts von der Flüssigkeit verspritzt.
2. In diese kochende Lösung werden 2,5 ccm des auf oben beschriebene Weise hergestellten Auszuges gegeben. Man lässt noch 2 Minuten kochen.

3. Die heisse Flüssigkeit wird durch ein mit einer Saugpumpe verbundenes Asbestfilter filtriert. Die Porzellanschale wird mit heissem Wasser gründlich ausgespült, um alles Kupfersulfat zu entfernen, und die Spülflüssigkeit nach dem Abfliessen der Fehling'schen Lösung auf das Filter gegossen, um auch das Filter auszuwaschen. Die Spülung mit heissem Wasser wird noch einmal wiederholt.
4. Das Filtrat wird in einen Messcylinder von 250 ccm Inhalt gefüllt, auf Zimmertemperatur abgekühlt und genau auf 250 ccm aufgefüllt.
5. Von dieser Flüssigkeit werden genau 50 ccm in einem Becherglase mit verdünnter Schwefelsäure versetzt bis zum Verschwinden der Blaufärbung, und in die Flüssigkeit einige Krystalle von Jodkalium gegeben.
6. Nachdem man einige Zeit hat stehen lassen, titriert man die gelbe Flüssigkeit mit $^1/_{10}$ Normal-Natriumhyposulfit $Na_2S_2O_3$ bis zum Verschwinden der gelben Farbe, gibt dann etwas Stärkelösung zu und titriert vorsichtig weiter bis zum Verschwinden der blauen Farbe.
7. Durch Titrieren von 5 ccm der angewandten Fehling'schen Lösung I wird auf die eben beschriebene Weise der Kupfergehalt derselben bestimmt.
8. Der Unterschied zwischen dem ursprünglichen Kupfergehalt und dem Gehalt nach Zusatz des reduzierenden Zuckers gibt an, wieviel Kupfer durch den Zucker reduziert wurde.

Die Menge des gebildeten Kupferoxyduls wird in folgender Weise berechnet: Zum Titrieren der ursprüng-

lichen Fehling'schen Lösung I werden 14,9 ccm $^1/_{10}$ Norm-$Na_2 S_2 O_3$-Lösung gebraucht. Zum Titrieren der in oben beschriebener Weise gewonnenen, mit 2,5 ccm des Mehlextraktes versetzten Flüssigkeit sind z. B. 14,4 ccm $^1/_{10}$ Norm-$Na_2 S_2 O_3$-Lösung erforderlich. Mithin ist durch Reduktion eine den fehlenden 0,5 ccm entsprechende Menge Kupfer ausgefallen. Da der Gesamtzuckergehalt des Mehles aber in 10 ccm enthalten ist, so ist diese Zahl mit 4 zu multiplizieren. Es fehlen also, wenn man den ganzen Auszug in Rechnung setzt $4 \times 0{,}5 = 2{,}0$ ccm $^1/_{10}$ Norm-$Na_2 S_2 O_3$. Da 1 ccm $^1/_{10}$ Norm-$Na_2 S_2 O_3$-Lösung einer Menge von 6,32 mgr Cu entspricht, so würde also durch den im 5,0 gr Mehl enthaltenen mit Alkohol extrahierten Zucker $2 \times 6{,}32 = 12{,}64$ mgr Cu reduziert.

Die unten bei den einzelnen Versuchen angegebenen Zahlen sind auf diese Weise gewonnen worden.

Es folgen hier die Protokolle der ausgeführten Versuche:

Versuch XIV.

Von dem bei unseren früheren Versuchen benutzten Schwungmehl wurden 5,0 gr auf die eingangs mitgeteilte Methode im nicht sterilen Zustande behandelt

Der ganze in 10 ccm Auszug enthaltene Zucker reduzierte:

1. Probe = 10,112 mgr Cu.
2. Probe = 12,64 mgr Cu.
3. Probe = 10,112 mgr Cu.
4. Probe = 10,112 mgr Cu.

Es ergibt sich somit, dass der in 5,0 gr unseres Schwungmehles enthaltene Zucker im Durchschnitt rund 10 mgr Cu reduziert.

In diesem und den folgenden Versuchen wurde das Kupferoxydul auch auf andere Weise direkt bestimmt und es ergaben sich dabei dieselben Resultate.

Versuch XV.

Von unserem Schwungmehl wurden 5,0 gr mit 25,0 ccm nicht sterilem, destillierten Wassers in Erlenmeier'schen Kolben gemischt und im Brutschrank bei 37° 24 Stunden lang der Gährung unterworfen. Der Kolbeninhalt zeigte nach dieser Zeit deutlichen Geruch nach Buttersäuregährung und wurde mit $^1/_5$ Normal-Natronlauge titriert. Die Weiterbehandlung zur Gewinnung des Zuckers gestaltete sich analog der oben beschriebenen Methode. Der Auszug reduzierte:

1. Probe: Acidität = 2,5; Reduktion = 40,448 mgr Cu.
2. Probe: Acidität = 2,8; Reduktion = 48,032 mgr Cu.
3. Probe: Acidität = 3,0, Reduktion = 45,504 mgr Cu.
4. Probe: Acidität = 2,8; Reduktion = 48,032 mgr Cu.

Dass auch auf andere Weise bestimmte Kupferoxydul lieferte dieselben Resultate.

Versuch XVI.

5,0 gr nicht steriles Schwungmehl werden mit 25 ccm destillierten Wassers in Erlenmeiern gemischt und 24 Stunden der Brutschranktemperatur von 37° Cels. ausgesetzt. Nach 24 Stunden zeigten diese Mischungen auf ihrer Oberfläche den von Flögel so oft gefundenen Belag. Die Mischungen erweisen sich beim Titrieren als weniger sauer wie die im vorigen Versuch. Der Inhalt eines Kolbens war sogar alkalisch.

Die Weiterbehandlung des Kolbeninhaltes erfolgte nach unseren obigen Darlegungen.

Dabei ergab sich:

1. Probe: Acidität 1,7; Reduktion = 40,448 mgr Cu.
2. Probe: Acidität 1,8; Reduktion = 37,92 mgr Cu.
3. Probe: Acidität 0,3; Reduktion = 37,92 mgr Cu.

Die direkte Bestimmung des Kupferoxyduls ergab im Wesentlichen dieselben Resultate.

Versuch XVII.

Auf früher dargelegte Weise wurden 5,0 gr Schwungmehl in Erlenmeier'schen Kolben sterilisiert, mit 25 ccm sterilen, destilierten Wassers übergossen und 24 Stunden lang der Brutschrankwärme von 37° Cels. ausgesetzt. Dann wurde der Säuregehalt zu 0,7 ccm $^1/_5$ Normal-Natronlauge bestimmt und auf bekannte Weise das Reduktionsvermögen des vorhandenen Zuckers festgestellt.

Es fand sich:

1. Probe = 12,65 mgr Cu.
2. Probe = 10,112 mgr Cu.
3. Probe = 10,112 mgr Cu.

Versuch XVIII.

5,0 gr sterilisierten Schwungmehles wurden in Erlenmeier'schen Kolben mit 25 ccm sterilen, destilierten Wassers übergossen und dieser Nährboden mit Reinkulturen unseres Stäbchens vom „weissen Mehlbelag" geimpft. Die Kulturen wurden bei 37° Cels. im Brutschrank 24 Stunden aufbewahrt und zeigten nach dieser Zeit gutes Wachstum. Der Kolbeninhalt wurde titriert und nach den dargelegten Methoden behandelt.

Es fand sich folgendes Reduktionsvermögen des erhaltenen Gesamtauszuges.

1. Probe: Acidität — 1,5; Reduktion = 12,64 mgr Cu.
2. Probe: Acidität — 2,2; Reduktion = 10,112 mgr Cu.

3. Probe. Acidität — 0,9; Reduktion = 10,112 mgr Cu.
4. Probe: Acidität — 0,7; Reduktion = 12,64 mgr Cu.
5. Probe: neutral ; Reduktion = 10,112 mgr Cu.

Die Resultate einer anderen Reihe von Kontrollversuchen, bei denen das gebildete Kupferoxydul auf andere Art bestimmt wurde, waren genau dieselben und sollen deshalb nicht noch einmal angeführt werden.

Zusammenfassung der Versuche XIV—XVIII.

Wie ein Blick auf die beigegebene Vergleichstabellen lehrt, wächst der Zuckergehalt des nicht sterilen Mehles während einer 24stündigen Bebrütung auf das 4—5fache seines ursprünglichen Wertes. Dabei ist der Zuckergehalt unabhängig von der Grösse der vorhandenen Säuremenge, unabhängig auch von der An- oder Abwesenheit unseres Stäbchens.

Durch die Einwirkung der Hitze beim Sterilisieren wird die Diastase zerstört, es kann also kein Zucker mehr gebildet werden. Verzehrte unser Stäbchen den Zucker, so müsste in den mit Reinkulturen geimpften Proben der Zucker verschwinden oder doch abnehmen, bildete es Zucker, so müsste die Untersuchung grössere Zuckermengen, als dem ursprünglichen Zuckergehalt entspricht, ergeben. Da aber die Zuckermenge genau die gleiche bleibt, so ist mit Sicherheit zu schliessen, dass unser Stäbchen, wenn es auf Mehl wächst, weder Zucker bildet noch zerstört.

Unsere Frage ob das Stäbchen das Auftreten grösserer Säuremengen in Mischungen von Mehl und Wasser durch Zerstörung des Zuckers hindert ist also mit Gewissheit zu verneinen.

Übersicht

über die

Resultate der Zuckerbestimmung

in den Versuchen XIV—XVIII.

Probe	Mehl 5,0 gr nicht steril	Mehl 5,0+H_2O 25,0 bei 37° Cels. nach 24 Stund.	Mehl 5,0+H_2O 25,0 bei 37° Cels zeigte Belag nach 24 Stund.	Mehl 5,0+H_2O 25,0 steril bei 37° Cels. nach 24 Stund.	Mehl 5,0+H_2O 25,0 sterilisiert mit „weissem Mehlbelag“ geimpft 37° nach 24 Stund.
1.	10,112 mgr Cu.	40,448 mgr	40,448 mgr	12,64 mgr	12,64 mgr
2.	12,64 mgr Cu.	48,032 mgr	37,92 mgr	10.112 mgr	10,112 mgr
3.	10,112 mgr Cu.	45,504 mgr	37,92 mgr	10,112 mgr	10,112 mgr
4.	10,112 mgr Cu.	48,032 mgr			12,64 mgr
5.					10,112 mgr

Die Zahlen geben an wieviel mgr Kupfer durch den Gesamtauszug der jeweils verwendeten 5,0 gr Mehl reduziert wurden.

Die Resultate sind durch nicht aufgeführte Kontrollversuche bestätigt.

D.

Wirkt unser Stäbchen als Antagonist der eigentlichen Säurebildner?

Um diese Frage mit genügender Aussicht auf Erfolg in Angriff nehmen zu können, habe ich mit meinen Versuchen in dieser Richtung gewartet bis Herr August Albrecht seine Untersuchungen über die Säurebildung durch Bakterien im Teige zum Abschluss gebracht hatte. Ich hatte gehofft mit den von ihm in dieser Beziehung erforschten Säurebildnern arbeiten zu können, musste aber diese Hoffnung schwinden sehen, da es dem genannten Herrn trotz der grössten Mühe nicht gelang diese Frage wesentlich zu fördern.

Es blieb mir also nichts anderes übrig als mich mit einem schwachen Säurebildner dem Bakterium coli, das von Herrn Dr. Jorns auf Teig gewonnen war, zu begnügen. Meine Versuche in dieser Richtung bewegen sich also in engen Grenzen.

Versuch XIX.

Auf zwei Platten von neutralem Agar wurden Strichkulturen angelegt von unserem Stäbchen „vom weissen Mehlbelag“ zwischen diesen Kulturen wurden gleichzeitig solche angelegt von Bakt. coli. Die Platten wurden bei 37° Cels. im Brutschrank aufbewahrt.

Nach 14 Stunden zeigen beide Bakterienarten gutes Wachstum, doch ist das Wachstum des Bact. coli im allgemeinen geringer als das des Stäbchens vom „weissen Mehlbelag“. Aber auch das Letztere erscheint in seinem Wachstum nicht so üppig wie auf den Platten, auf denen es allein sich befindet.

Nach 48 Stunden haben sich die Kulturen beider Arten weiter entwickelt, ohne dass man sagen könnte, dass die eine Art die andere überflügelt habe. An den Enden der Striche herrscht allerdings unser Stäbchen vom „weissem Mehlbelag“ vor.

Versuch XX.

Es werden auf zwei Platten von neutralem Agar Strichkulturen von unserem Stäbchen, vom „weissen Mehlbelag“ angelegt, die bei 37°Cels aufbewahrt werden und nach 14 Stunden sich üppig entwickelt haben.

Nach 24 Stunden werden auf einer Platte zwischen den zuerst angelegten Kulturen solche von Bact. coli angelegt und die Platte weiter im Brutschrank aufbewahrt.

24 Stunden nach dieser letzten Impfung zeigen zwar die Kulturen des Bact. coli Wachstum, doch steht es hinter der Entwicklung auf Platten, auf denen es sich allein befindet stark zurück.

Nach 48 und 72 Stunden zeigt sich dasselbe.

Versuch XXI.

Zwei Platten von neutralem Agar werden in Strichkulturen mit Bact. coli geimpft. Die Platten kommen in den Brutschrank bei 37° Cels.

Nach 14 Stunden sind die Kulturen gut entwickelt und überziehen fast die ganze Platte mit einem zarten Schleier.

Nach 24 Stunden werden bei einer Platte zwischen den Kulturen des Bact. coli solche von unserem Stäbchen vom „weissen Mehlbelag“ angelegt und die Kulturen der Brutschrankwärme überlassen.

Nach 24 Stunden zeigten die zuletzt angelegten Kulturen allerdings Wachstum, das aber bei weitem nicht so üppig war als auf Platten, auf denen das Stäbchen vom „weissen Mehlbelag“ allein zur Verimpfung kam.

Nach 48 und 72 Stunden dieselbe Erscheinung.

Zusammenfassung der Versuche XIX—XXI.

Wenn man die Erfahrungen mit Bact. coli und unserem Stäbchen auch für die anderen Säurebildner gelten lassen darf, so kann von einer ausgesprochenen Behinderung im Wachstum bei gleichzeitiger Verimpfung nicht die Rede sein.

Wie sich dieser Bacillus gegenüber den wichtigeren Säurebildnern des Teiges verhält, ist damit nicht entschieden — es ist möglich dass er trotzdem sehr stark behindert wird.

Rückblick.

Lassen wir am Schlusse unserer Arbeit noch einmal die Ergebnisse unserer Untersuchungen an uns vorüberziehen, so ergibt sich:

1. Unser Stäbchen kann das Auftreten grösserer Säuremengen in Mehl-Wassermischung nicht dadurch hindern, dass es die von anderen Organismen gebildete Säure zerstört, denn es zeigt auf stärker sauren Nährböden gar kein oder doch nur ein kümmerliches Wachstum.
2. Das Stäbchen kann auch nicht dadurch hemmend auf die Säurebildung einwirken, dass es Zucker zerstört und so anderen Organismen die Nahrung raubt.

3. Sicher bewiesen ist, dass unser Stäbchen Ammoniak bildet und dadurch einen Teil der von anderen Organismen gebildeten Säure verdeckt.

   Doch lässt sich nach den von uns gefundenen geringen Zahlen nicht annehmen, dass hierin die einzige Wirkungsart des Stäbchens beruht.

4. Ob das Stäbchen ein Antagonist der eigentlichen Säurebildner ist, lässt sich nach meinen Untersuchungen nicht mit Sicherheit entscheiden. Doch verlohnt es sich diese Frage weiter zu untersuchen.

   Vielleicht würden in grösserem Umfange ausgeführte Untersuchungen über die antagonistische Wirkung zu befriedigenden Resultaten führen.

Ich bin mir der Unvollkommenheit meiner Arbeit wohl bewusst, da die Bearbeitung eines solchen Themas dem Anfänger auf diesem Gebiete viel Schwierigkeiten bietet. Das bitte ich bei der Beurteilung der Arbeit gütigst berücksichtigen zu wollen.

Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Lehmann schulde ich für seinen unermüdlichen Beistand den grössten Dank.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Dr. Lang und Herrn Dr. Jorns, die mich bei meinen Versuchen in überaus liebenswürdiger Weise unterstützten, meinen aufrichtigen Dank aussprechen. Desgleichen bin ich meinem Freunde Herrn Joseph Flögel für seine gelegentliche, liebevolle Mitarbeit zum Danke verpflichtet.

Lebenslauf.

Ich, Joseph Stockmann, bin geboren am 23. Juli 1879 zu Althaldensleben im Regierungsbezirk Magdeburg als Sohn des Kaufmannes Joseph Stockmann in Althaldensleben. Nach Besuch der Volksschule meines Geburtsortes, sowie der Gymnasien zu Paderborn und Warburg erwarb ich mir zu Ostern 1900 das Reifezeugnis in Warburg und bezog im April 1900 die Universität Marburg, woselbst ich 4 Semester studierte und am 4. März 1902 mich der ärztlichen Vorprüfung unterzog. Darauf studierte ich von Ostern 1902 ab in Würzburg und bestand daselbst am 6. Februar 1905 die ärztliche Staatsprüfung. Vorstehende Dissertation habe ich unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Lehmann verfasst.